

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2001-258868

(P2001-258868A)

(43)公開日 平成13年9月25日 (2001.9.25)

(51) Int.Cl.
 A 61 B 5/145
 5/15
 G 01 N 27/447
 27/414
 27/327

識別記号

F I
 G 01 N 31/22
 33/49
 33/66
 33/84

テマコト*(参考)
 2 G 0 4 2
 Z 2 G 0 4 5
 A 4 C 0 3 8
 A
 Z

審査請求 未請求 請求項の数11 書面 (全 14 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2000-120189(P2000-120189)

(71)出願人 599153220

菊地 純

東京都港区白金台2丁目14番地6号

(22)出願日 平成12年3月15日 (2000.3.15)

(71)出願人 594169385

堀池 靖浩

東京都西東京市東伏見3丁目2番地12号

(72)発明者 堀池 靖浩

東京都保谷市東伏見3丁目2番地12号

(72)発明者 高村 禅

神奈川県相模原市相模大野4-2-5-

707

(72)発明者 足立 作一郎

神奈川県川崎市麻生区王禅寺1957-4

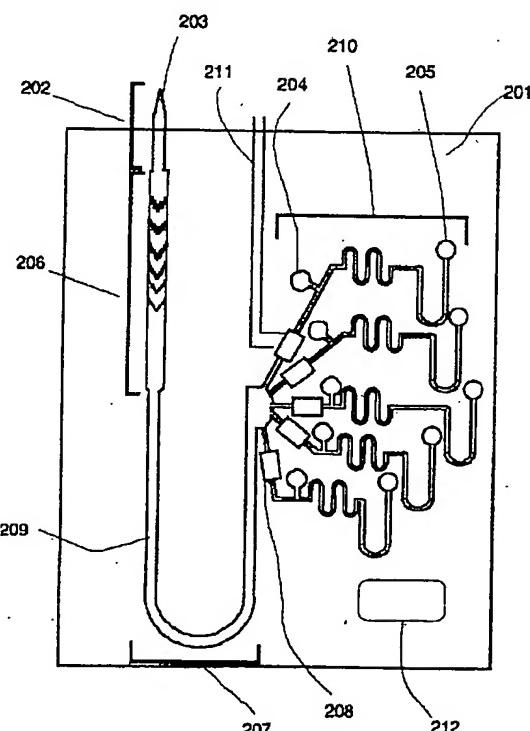
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 血液分析方法ならびに装置

(57)【要約】

【課題】従来病院あるいは検査機関において実施されている血液検査では、高価で大規模な自動血液分析装置を用いており、また、採血を始めとする検査作業も資格を有するものに限られていた。このため、これらの血液検査では疾病の原因究明はるいは高々1年に1回程度の健康診断で実施されるのみである。昨今大気温暖化や内分泌から乱物質などの環境悪化により日々人間の健康が蝕まれており、より高い頻度で血液検査を行い健康状態の管理を行うことが、重大な疾病への進展を予防するため必要とされる。そのためには、家庭で特別な訓練を受けずにも、手軽に血液検査ができる装置が必要とされていた。

【解決手段】血液を採取する手段と、血液からろ過して血漿を得るろ過する手段と、血液を分離して血清を得る分離する手段と、血液成分中のpH値、酸素濃度、二酸化炭素濃度、ナトリウム濃度、カリウム濃度、カルシウム濃度、グルコース濃度、乳酸濃度を分析する手段を小型一体にまとめたヘルスケアデバイスを提供する。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 生体内より血液を採取する採取手段と、少なくとも採取した当該血液をろ過し血漿を得るろ過手段あるいは当該血液から血清を分離する分離手段の内いずれかの手段と、当該血液中の物質を分析する分析手段と、当該採取手段、当該ろ過手段、当該分離手段、当該分析手段を接続する流路手段と、当該採取手段、当該ろ過手段、当該分離手段、当該分析手段、当該流路手段内に存在する当該血液の成分を移動させる移動手段と、当該分析手段からの情報を外部に取出すための出力手段と、当該採取手段、ろ過手段、分離手段、分析手段、移動手段、出力手段の少なくとも一つの手段の動作を制御するための制御手段と、当該血液の成分を当該基板内に保持しておくための保持手段を、一つあるいは複数の基板内に備え、かつ当該基板が複数である場合には当該基板が一体化された構造であることを特徴とする装置において血液の採取、濾過、分離、分析を行う方法。

【請求項2】 生体内より血液を採取する採取手段と、少なくとも採取した当該血液をろ過し血漿を得るろ過手段あるいは当該血液から血清を分離する分離手段の内いずれかの手段と、当該血液中の物質を分析する分析手段と、当該採取手段、当該ろ過手段、当該分離手段、当該分析手段を接続する流路手段と、当該採取手段、当該ろ過手段、当該分離手段、当該分析手段、当該流路手段内に存在する当該血液の成分を移動させる移動手段と、当該分析手段からの情報を外部に取出すための出力手段と、当該採取手段、ろ過手段、分離手段、分析手段、移動手段、出力手段の少なくとも一つの手段の動作を制御するための制御手段と、当該血液の成分を当該基板内に保持しておくための保持手段を、一つあるいは複数の基板内に備え、かつ当該基板が複数である場合には当該基板が一体化された構造であることを特徴とする血液分析装置。

【請求項3】 請求項1記載の血液分析方法において、血液の採取に先立ち、採取手段、ろ過手段、分離手段、分析手段、移動手段、流路手段内を緩衝液で満たすことを特徴とする血液分析方法。

【請求項4】 請求項2記載の採取手段が、請求項2記載の基板とは異なる部材からなる中空の針を付属し、当該針が先端を $30\mu m$ 以下の直径を有する円錐状のガラスあるいは高分子部材の表面に燐ガラスを形成し、さらにその表面に耐食性金属を堆積した後、緩衝フッ酸液により当該耐食性金属部分のみを分離して製作されたものであることを特徴とする請求項2記載の血液分析装置

【請求項5】 請求項2記載のろ過手段は、複数枚の定められた径以上の粒子の通過を阻止する石英板を有し、当該石英板において当該定められた径は、血液の流れの方向に沿って増大することを特徴とする血液分析装置。

【請求項6】 請求項2記載の分離手段内に存在する

血液あるいは血液抽出物を、請求項2記載の血液分析装置本体を回転し、比重の異なる当該血液中の成分に働く遠心力の大きさの違いにより、当該血液中の成分を当該分離手段内において分離する方法。

【請求項7】 請求項2記載の分析手段に血液成分を導入するための移動手段が、当該分析手段より下流側に設置されていることを特徴とする血液分析装置。

【請求項8】 請求項7記載の血液分析装置において、請求項3記載の血液分析方法により、請求項3記載の緩衝液を用いて分析手段の下流に設置された移動手段により、当該分析手段内に血液成分を引き込んだ後、当該緩衝液が移動手段より分析手段へ逆流する前に分析を終了する血液分析方法。

【請求項9】 請求項2記載の血液分析装置において、請求項2記載の移動手段を構成する2個の電極のうち、流路をたどった距離において採取手段に近い側の電極を接地することを特徴とする血液分析装置。

【請求項10】 請求項2記載の分析手段は血清中のpH値、酸素濃度、二酸化炭素濃度、ナトリウム濃度、カリウム濃度、カルシウム濃度、グルコース濃度、乳酸濃度の測定手段であることを特徴とする血液分析装置。

【請求項11】 $10\mu m$ 以上 $150\mu m$ 以下の幅を有し、 $10\mu m$ 以上 $150\mu m$ 以下の深さを有する溝状構造物と、当該溝状構造物の溝内に少なくとも液体を含む物質を保持するための蓋から構成されるマイクロキャビラリにおいて、少なくともマイクロキャビラリ内壁に 0.25wt \% 以上 1.0wt \% 以下の濃度のMPCポリマー($2\text{-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine}$)が塗布されていることを特徴とする装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、血液を採取し、血液中の赤血球、白血球、リンパ球、血小板、血液凝固因子などを分離し、その結果得られた血清などのpH値、酸素あるいは二酸化炭素などの濃度を測定する血液分析方法ならびに装置に関する。特に前述の操作に必要な機能、構造のすべてが一つのデバイス内に集積されており、さらにそのデバイスが小さく、その取り扱いに専門の医学の知識、資格を必要とせず、簡易に上述の血液分析を行うことを特徴とするヘルスケアデバイスに関する。

【0002】

【従来の技術】人の健康状態や疾病を診断する電子的な装置として、体温計、血圧計、超音波診断、X線CT、MRIなどのに他に、血液自動分析装置がある。これは、数ミリリットルの血液を採取し、遠心分離器を用いて、赤血球、白血球、リンパ球、血小板、血液凝固因子を分離して得られた血清を、多数の試験管に分け、各試験管を一列に並べて動かし、ケミカルセンサにより、pH、

酸素、二酸化炭素などの各濃度を測定する他、各試験管の血清に酵素などの試薬を入れ、血清中の基質との発光反応の分光や吸収分光を行い、データをコンピュータで処理して人体を診断することに用いられている。

【0004】また、血液あるいは人体組織の分析、測定方法に関する技術として、以下に述べる開発がそれぞれ行われている。まず、血清のような溶液中の混入物質の測定法としては、キャビラリ電気泳動法が一般に用いられている。本方法を図1により説明する。101は石英管であり、102は正電極であり、103は負電極である。例えば、直径0.1mm程度のキャビラリと呼ばれる細長い石英管101の中に電解液を入れる。一般に、石英管の場合、その内壁表面には負の電荷を生じるために、電解液中のカチオン（正電荷のイオン）は負電荷とのクーロン力により、石英の内壁に集まり、いわゆるヘルムホルツの二重障壁104を形成する。そこで、このキャビラリの両端に設けた電極102、103に高電圧を印加すると、まず、負電圧103側に、内壁のカチオン105が引っ張られ、移動すると、粘性により電解液全体も負電圧103側に移動する。この流れを電気浸透流106と呼ぶ。一方、電解液中のカチオンは最も早く負電極103側に到達し、中性種107は電気浸透流106により次に到達し、そしてアニオン108（負イオン）は、本来正の電圧側102に引っ張られるが、電気浸透流106により負電圧103側に移動し、従って最も遅れて到達する。このアニオンやカチオンが電界により移動する流れを電気泳動流109と呼ぶ。

【0005】また、最近、DNAの分析に関して、以下に述べる方法が研究されている。すなわち、前述のキャビラリを石英板や高分子板に形成し、蓋をして、数cm角のチップ上に製作したマイクロキャビラリと呼ばれるものがある。例えば、DNAなどを中性ゲル中にいれ、DNAは電荷を有するので電気泳動により移動させ、分子量の相違による総電荷相違により分離する。また、本方法は、マイクロキャビラリ中を移動する物質に途中から他の試薬を入れ、その反応を検出するような従来の試験管方式と異なる反応検出法が盛んに研究されている

【例えば、馬場嘉信；蛋白質 核酸 酵素、45巻、1号（2000）76-85頁】。これは、マイクロ全分析システム（μ-TAS；total analysis system）やチップ上研究室（Lab-on-Chip）と呼ばれている。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】前述の血液自動分析装置は、一般には血液センターや病院で用いられ、高価、且つ大規模であり、しかも全診断に数時間要する。通常これらの血液分析は、疾病の原因究明あるいは健康体においても一年に一回程度受ける健康診断などの際に実施されるため、一回の分析によって種々の情報をそれぞれ精緻に得ることを目的としている。しかし、昨今大気

温暖化や内分泌かく乱物質などの環境悪化により日々人間の健康が蝕まれており、より高い頻度で血液検査を行い健康状態の管理を行うことが、重大な疾病への進展を予防するために必要とされる。このような日々の健康管理を目的とした血液検査には、高々血液中のpH、酸素、二酸化炭素、ナトリウム、カリウム、カルシウム、グルコース、乳酸などのいわゆる健康マーカーを呼ばれるものの濃度などを測定するだけで足りるものである。先述のような高価、大規模な血液分析装置を用いた精緻な検査までは必要なく、分析項目を絞った簡素な装置が必要とされていた。

【0007】また、最近、寝たきり老人の増加にともない、その健康管理が課題となっているが、このような人にとって、頻繁に病院等に通い検査を受けることは困難であり、在宅のまま健康管理を行う手段が必要とされている。現在の血液検査方法では、採血は医師など有資格者にかぎられており、要介護老人の介護の担い手であるヘルパーではできない行為である。そこで、一般の人でも、採血を含めて手軽に取り扱える血液分析装置が必要とされていた。また、血液検査を頻繁に行うためには、採血の際に苦痛を伴なわないことが望ましく、また、注射針による皮膚の変色など人体への影響も極力抑えることが望ましい。

【0008】以上に述べたような家庭で手軽に取り扱える血液分析装置を実現するためには、装置本体が小型でなければならない。そのためには、血液分析に必要となる採血、濾過、分離、分析などの機能がコンパクトに一体化されている必要がある。血液等の分析技術に関しては、前述したような、個々の技術開発は行われているものの、それら技術を取り入れ血液分析装置として一体化するための集積技術はこれまで得られていなかった。

【0009】

【課題を解決するための手段】生体内より血液を採取する採取手段と、少なくとも採取した当該血液をろ過し血漿を得るろ過手段あるいは当該血液から血清を分離する分離手段の内いずれかの手段と、当該血液中の物質を分析する分析手段と、当該採取手段、当該ろ過手段、当該分離手段、当該分析手段を接続する流路手段と、当該採取手段、当該ろ過手段、当該分離手段、当該分析手段、当該流路手段内に存在する当該血液の成分を移動させる移動手段と、当該分析手段からの情報を外部に取出すための出力手段と、当該採取手段、ろ過手段、分離手段、分析手段、移動手段、出力手段の少なくとも一つの手段の動作を制御するための制御手段と、当該血液の成分を当該基板内に保持しておくための保持手段を、一つあるいは複数の基板内に備え、かつ当該基板が複数である場合には当該基板が一体化された構造であることを特徴とする血液分析装置を提供し、採取した血液を濾過、分離した後、分析手段に導き、血液の分析を行う。

【0010】

【発明の実施の形態】図2に本発明に基づく装置の概略図を示す。201は基板であり、本装置の各手段は本基板をエッティングにより製作されたマイクロキャピラリに沿って配置される。このマイクロキャピラリの表面にはMPCポリマー(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine)の被覆が設けられており、血漿や血清中のタンパク質のマイクロキャピラリ表面上での凝固、付着を防止する。202は血液の採取手段である。203は中空の針であり、採取手段に付属する。この針を体内に刺して基板内への血液の取り入れ口とする。204、205は電極であり、この電極間に印加した電圧のため生じる電気泳動流による吸引力によって、体内より基板内に血液を取り入れる。206は血液の濾過手段であり、血液の流れの上流から下流に向かって、次第に間隔の狭くなる複数のスリットを有する。このスリットにより、血液中の赤血球、白血球、リンパ球、血小板を濾過して取り除き、濾過手段の下流側に血漿を得る。207は分離手段であり、例えばU字型のマイクロキャピラリからなる。採取した血液を濾過して得られる血漿をこのU字型のマイクロキャピラリに導いた後、本基板を遠心分離器により一定方向に加速度を加えることによって、U字部に血漿より凝固因子を分離除去した血清が得られる。208は分析手段であり、血液中のpH値、酸素、二酸化炭素、ナトリウム、カリウム、カルシウム、グルコース、乳酸などの各濃度を測定するためのセンサを有する。209は採取手段、濾過手段、分離手段、分析手段のそれぞれを接続する流路手段であり、基板をエッティングして製作したマイクロキャピラリからなる。210はマイクロキャピラリ中で血液を電気泳動法により移動させるための移動手段である。211は分析手段から情報を取出すための出力手段であり、電極などから構成される。212は、以上の採取手段、濾過手段、分離手段、分析手段、移動手段、出力手段を必要に応じて制御するための制御手段である。図示していないが、基板上のマイクロキャピラリ内に血液を保持しておくための板を有し、この板は基板201に接着あるいは圧着されている。

【0011】採取手段202により採取された血液は、濾過手段204にて濾過され血漿となり、さらに分離手段205にて凝固因子を分離除去して血清が得られ、これを分析手段においてpH値、酸素、二酸化炭素、ナトリウム、カリウム、カルシウム、グルコース、乳酸などの各濃度を測定する。各手段間の血液の移動は、電気泳動法を用いた移動手段210により行う。

【0012】

【実施例】・第1の実施例

本実施例の装置は図2に示したものと同様であり、符号は前述のものを使用する。以下、各手段ごとに説明する。まず、図3、図4を用いて血液の採取手段202に付属する針の製造法について説明する。図3の上段に針

を製作する際に芯材として使用する石英の製造方法を示す。301は芯材の石英棒であり、これをバーナー302により加熱して軟化させたのち引き延ばして、先端の径を10μm以下になるようにして切断した。次に、図3の下段に示すような抵抗加熱ヒータ304を有する電気炉305を予め800℃に加熱してから、前述の要領で製作した石英の芯材303を炉の中に置き、その後処理ガス306として三塩化燐(POCl₃)と酸素を電気炉305中に流す。その結果、芯材303の表面には燐ガラス(P2O5)308が形成される。次に、表面に燐ガラスを掲載したさらにその上にステンレスを堆積する方法について述べる。図4にこの処理を行う装置を示す。401はステンレス製の円筒真空容器であり、円筒真空容器401の外周には、一对のリング状磁石402が約1cm離して設置されており、N極とS極が形成されている。このとき、円筒真空容器401の内壁には数10から数百ガウスの磁場が生じている。この円筒真空容器401内に表面に燐ガラスを形成した石英の芯材403を置き、Arガスを20sccmを流して、圧力を10mTorrとした。この状態において電源404を用いて円筒真空容器401に負の高電圧を印加し、容器内でマグネトロン放電405を生じさせる。放電を20分間行うことにより、芯材403の表面には厚さ約10μmのステンレス堆積膜406が形成された。なお、マグネトロン放電の際に円筒真空容器401の温度が上昇することを抑えるために水冷パイプ407と冷却板408によって円筒真空容器401を冷却した。この後、この芯材403を30~60度の角度に固定し、研磨し、銳利な針先を形成する。次に、この芯材403を緩衝フッ酸液に入れ、燐ガラスのみを高速でエッティングすることにより、ステンレス堆積物は芯材403から除去され、長さが約1cmのステンレスの中空な針が得られる。このような極細のステンレスの針は、先端の約1mmの部分を残し、他の部分の周囲をシリコンラバーなどで覆い、補強、保護とする。さらに、この針を基板の採取手段の端部に当る注入口に接着剤を用いて貼り付けて使用する。以上に述べたようにして製作した針は、先端の径が微細であることから、皮膚に刺したところ、神経に当らずに皮膚を突き通し血管まで達するため、痛みを感じなかった。なお、芯材403の材料は石英に限らず、ガラスあるいは高分子などでもよい。また、円筒真空容器401はステンレス以外の金属を用いても良い。

【0013】次に、基板内の各手段を形成するマイクロキャピラリの製作方法を、図5を用いて説明する。例えば、厚さ0.5mmで2cm角の石英板501を用意し、まず、(1)石英板501上にクロム(Cr)膜502を約1μmの厚さでスパッタ法で堆積する。次に、(2)Cr膜502上にホトレジスト503を塗布し、光露光で約30μm幅の抜けパターンを形成する。

(3)このCr膜502を湿式又はドライ法によりエッ

チングする。ドライ法では、C12ガスを一巻アンテナを用いたICP（誘導結合プラズマ）で放電し、アンテナより18～20cmの下流域（ダウンストリーム）でCr膜502をエッティングする。本エッティング法は、特願平11-124709による方法を用いている。そして、(4)このCr膜502をマスクに、C4F8とSF6を85対15の比で混合したガスをICPにより放電し、13.56MHzの高周波バイアスを印加した電極上に石英板501を載置し、下地の石英板501を垂直の壁を有するようにエッティングし、キャビラリ溝を形成する。その際の条件は、アンテナに導入した13.56MHzの電力は500Wであり、高周波バイアス用の13.56MHzの電力は5W、圧力は10mTorrとした。その後、(5)Cr膜502を湿式法で除去し、(6)血液や緩衝液の注入口や出口用の孔を超音波加工により開口したもう一枚の石英板504を用意して、キャビラリ溝を設けた石英板501と共に、1%HF（フッ酸）に侵した後、両板を重ね合わせ、1.3MPaの圧力で24時間押し付けた。最後に、(7)白金等の電極505を、上記の注入口や出口などに蒸着などの方法で形成し、マイクロキャビラリチップが出来上がる。(4)の工程で形成されたマイクロキャビラリ溝を有する石英板を成形型として用い、ポリエチレン等の高分子膜に適当な温度でモールド形成してマイクロキャビラリ溝を製作してもよい。更に、石英板を用いずに、高分子板に直接マイクロキャビラリ溝を形成し、蓋も高分子で形成しても良い。

【0014】次に、血液の採取手段において血液をマイクロキャビラリ中に引き込む方法、ならびに、移動手段においてマイクロキャビラリ中で血液を移動させる方法を図6を用いて説明する。用いたマイクロキャビラリを図6に示すグラフ中に示す。これは、前述の製造方法により製作した石英板内のマイクロキャビラリの一部を示したものである。このマイクロキャビラリは幅が約30μm、深さが約30μmである。このマイクロキャビラリの全域をpH7.4の磷酸緩衝液(PBS)で満たした後、A-C間に高電圧を印加し、そのときの電圧-電流特性をイオン強度を変えて測定した結果を図6のグラフに示す。グラフ中で「低速」とは15秒毎に50Vを印加した結果であり、「高速」とは一秒間に70Vの電圧を印加した結果である。「低速」の場合は、電圧印加と共に電流が急激に流れ始め、特に高イオン強度の場合は激しい。これは、電流が流れることによりジュール加熱が起こり、緩衝液の移動度が増加するためと説明されている。一方、「高速」で電圧を上昇させると線形関係を示す。従って、急激に電圧を上げると、緩衝液の温度が上昇せずに正イオンが高速で移動することを意味する。すなわち、「高速」モードを用いると電気浸透流により、液を動かすポンプ作用が得られることを示している。

【0015】この電気浸透流のポンプ作用による吸引力の測定について述べる。図7にポンプ作用の吸引力測定を行ったマイクロキャビラリを示す。これは、先に述べた方法で製作した石英板の一部を取出して図示したものである。このマイクロキャビラリは幅が約30μm、深さが約30μmである。まず、マイクロキャビラリ全域701をpHが7.4の磷酸緩衝液(PBS)で満たした。そして電極A702と電極B703に高電圧を印加すると、PBSが電極A側に電気浸透流により移動し、入り口C704から空気705が注入される。マイクロキャビラリ中に侵入した空気705の先端をピストン706を用いて、入り口C704まで引き戻したときの圧力を圧力計707で測定した。その結果、このときの電気浸透流のポンプ作用による吸引力 6×10^3 Paであることがわかった。

【0016】次に血液の濾過手段について説明する。図8は、先に述べた方法で製作した石英板の中から採取手段と濾過手段を取出して図示したものである。801は血液の採取手段とろ過手段であり、下段にその拡大を示す。802は注入口であり、端部に針803が接着により取り付けられている。804はろ過手段であり、内部には図に示すような石英板のエッティング加工により形成した多段階の微細溝を有する。ここで用いた石英板では、注入口802側より、10μm幅溝805、8μm幅溝806、6μm幅溝807、4μm幅溝808、2μm幅溝809、1μm幅溝810を設けてある。電極A811、電極B812に電圧を印加し、前述したように電気浸透流のポンプ作用により、血液を針803から採取し、次にろ過手段を通過させた。その結果、ろ過手段の下流には、ほとんど赤血球の混入が無い血漿813が得られた。

【0017】次に、血液からろ過手段を通して得られた血漿より、更に遠心分離によりマイクロキャビラリ内で凝固因子を分離し血清を得る分離手段と分離方法を、図9を用いて説明する。U字型のマイクロキャビラリ901の一方は針を付属した注入口902と結合している。また、電気浸透流ポンプ903を有し、高電圧を印加するための電極A904と電極B905が設けてある。電極A904と電極B905の間に電界約1kV/cmを印加し、針902よりU字型のマイクロキャビラリ901に血液を導入した。このとき、感電を避けるため、電極A904側を接地した。そして、図10に示す簡易型遠心分離器1001に、図9のマイクロキャビラリを含む石英板1002を、図9に示した矢印の方向により大きな加速度がかかるように取り付け回転させた。5000rpmの回転速度で30分回転した後に、U字型キャビラリ901の図9に示した矢印の向きと反対側のU字管部分に血清を得た。

【0018】以上述べた採取手段、ろ過手段、分離手段、流路手段、分析手段の構造を構成する要素であるマ

イクロキャピラリは石英で製作されている。そのため、血液や血漿や血清のような生体物質をマイクロキャピラリ内に導入すると、内壁にタンパク質が凝固したり吸着するため、キャピラリ流路が細くなったり、極端な場合は詰まつたりする現象が見られる。この凝固や付着を防止するために、マイクロキャピラリの内壁に、MPCポリマー(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine)をコートした。MPCポリマーは、石原らにより発明された(特許第2947298号)が、これは我々生物の生体膜を構成している材料と類似の材料から人工的に合成した高分子である。従って、タンパク質吸着を抑制し、生体との好ましくない反応を阻止する極めて優れた効果を示す。図11のグラフ中に示すマイクロキャピラリを用いて、MPCポリマーのマイクロキャピラリ内壁へのコートの有無、及び内壁にコートするMPCポリマーの濃度に対するタンパク質等の凝固、付着防止効果を示す。マイクロキャピラリの幅は約30μm、深さは約30μmである。まず、マイクロキャピラリ内をpH=7.4、イオン強度0.16の磷酸緩衝液で満たし、キャピラリ端Aに牛血清を注入後、速やかにA-C間に種々の高電界を印加し、血清をキャピラリ中に導入した。血清のマイクロキャピラリ内の流れに及ぼす凝固や付着の影響は、導入された血清濃度をキャピラリ端Aより4mm離れた点Eにおいて、血清に対して吸収が強い220nmの紫外光を絞って照射し、その吸収により血清が点Eに到達したかどうかを判定した。測定はMPCポリマー被覆なし、0.05wt%濃度コート、0.3wt%濃度コートのそれぞれについて行った。MPCポリマーコートの場合は、石英表面と比べ、MPCポリマー表面には負荷電を多く生じないので、電気浸透流が抑えられ、被覆なししが最も速く測定点に達すると予想されるが、測定の結果、コートなししが最も遅かった。0.05wt%と0.3wt%の到着時間は大差ない。しかし、0.3wt%では到達後、濃度が飽和するのに対し、0.05wt%と被覆なしでは明らかに減少する。これらより、被覆なし及び0.05wt%では、MPCコーティングが不十分で、血清中のタンパク質が測定点に達する前に内壁に付着して失われてしまったと考えられる。すなわち、0.3wt%濃度のMCPポリマーを石英のマイクロキャピラリ表面にコートすることによる、マイクロキャピラリ中での血清たんぱく質測定における凝固ならびに付着の抑制効果が示された。

【0019】次に、分析手段として血清濃度をケミカルセンサで測定する際、特にその測定にISFET(*ion sensitive field effect transistor*)を用いる場合の問題点と実施した対策例について述べる。ISFETはMOS(*metal-oxide-semiconductor*)構造を有する。そこで、図11のグラフ内に図示したように

マイクロキャピラリ端Aより血清を導入し、A-C間に高電圧を印加し、A-C間を移動する血清中のイオン濃度を例えば点Eにおいて測定するために、ISFETの測定領域面をA-C間に置くと、高電圧が直接MOS構造に印加され、たとえFETを浮遊状態にしても窒化シリコンと酸化シリコン膜の積層からなるISFETの絶縁膜が絶縁破壊する。この対策として、マイクロキャピラリの下流側に高電圧を印加する電気浸透流ポンプを設け、このポンプの吸引作用により、ポンプより上流に位置するマイクロキャピラリに血清などを導き、このマイクロキャピラリのところにISFETのようなケミカルセンサを設けた。図12は、(a)のように下流に11cmの長さのマイクロキャピラリのポンプ領域を設けた場合と、(b)のように0.8cmの極短いポンプ領域を設けた場合について、電気浸透流の作用による血清の移動状況を比較した。マイクロキャピラリの幅は約30μm、深さは約30μmである。まず、PBSで全マイクロキャピラリ流路を満たした後、いずれのマイクロキャピラリにおいても、B-C間に2kVの電圧を印加した。その後、入り口Aから牛血清を注入し、点Eで220nmの紫外光を絞って照射したときの吸光度の時間変化を示す。その結果、電圧を同じとしたとき、(a)のマイクロキャピラリ形状の方が(b)のものよりも速く血清が入り口Aより4mmの位置に到達し、B-C間のマイクロキャピラリを長くとることにより高いポンプ能力が得られることから、ISFETなどのケミカルセンサの下流側に血清などの移動手段を設けた場合にも、ケミカルセンサに血清を導けることがわかり、ISFETの絶縁破壊を防止できることが示された。

【0020】一方、ケミカルセンサの下流側に設けた移動手段により、血清をケミカルセンサ近傍のマイクロキャピラリ内に引き込み、移動手段の電圧を切ったとする。この際、ケミカルセンサで測定をしている間にPBSが拡散現象で逆流してくると測定が出来なくなる。そこで、この逆流が生じるまでの時間を調べた。図13のグラフ中に図示したマイクロキャピラリは、本測定に用いたものであるが、寸法は図12(a)と同様である。測定では、まず全マイクロキャピラリ流路をPBSで満たした後、B-C間に高電圧を印加し、入り口Aから牛血清を注入し、その後高電圧を切り、入り口Aから2mmと4mmの地点における200nmの紫外光の吸収を調べた。縦軸の吸収度が低下し始める時点においてPBSがケミカルセンサの下流側から戻り始めたことを示す。ケミカルセンサを用いた測定に要する時間に応じて、B-C間の引き込み距離をより長くすることにより、逆流開始に至る時間を延長できることは容易に推測される。

【0021】以下、本装置を用いた血液分析とその結果を説明する。図14は、本装置の分析手段近傍の構成を示す。1401、1402はISFETセンサであり、

1403と1404はグルコースセンサとAg/AgCl電極であり、1405は移動手段である電気浸透流ポンプを示す。ISFETセンサの測定面積は $15\mu\text{m} \times 150\mu\text{m}$ であり、 $30\mu\text{m}$ 幅のマイクロキャビラリの流路に沿って、その下に配置し、白金直径 $20\mu\text{m}$ の白金線グルコースセンサはマイクロキャビラリ流路の側壁に垂直に挿入した。

【0022】図15に、牛血清中に濃度の異なるグルコースを混入させ、その濃度変化に対するセンサ電流を示す。ここで、グルコースセンサとしては、直径 $20\mu\text{m}$ のPt線上に、酢酸セルロース、グルコース酸化酵素、フェロセンカルボキシアルデヒドを順にコーティングしたもの用い、これらの表面はMPCポリマーでコーティングした。図15より、グルコース濃度が0の時に流れている電流は暗電流であるが、グルコース濃度の変化に対してほぼ線形に応答していることが示される。

【0023】図16は、ISFETセンサを用いた牛血清中のpH、Na⁺、K⁺各濃度の測定結果を示す。pHの測定にはSi3N₄、Na⁺にはPVC、THF、BIS(12-crown-4)、NPOE、K-TCPGの混合膜、K⁺の測定にはPVC、THF、BIS(Benzo-15-crown-5)、NPOE、K-TCPGの混合膜を感応膜とした。いずれの場合でも、広範囲に線形的に応答していることが分かる。

【0024】・第2の実施例

図17には図2で説明した本発明のヘルスケアデバイスの変型例を示す。本装置は図2の例と同様に1701の石英基板上に、まず1702の血液採取のための針を介して血液を1703のマイクロキャビラリへ導入する。この際キャビラリ中で血液が凝固しないように1704に貯めておいた抗凝固剤(クエン酸ナトリウム、EDTA、ヘパリン)を1705のゴム栓を押すことで適宜キャビラリ内に供給できるようになっている。そして1706の分離手段において図10に示した遠心分離器を用い、血清と血球を分離する。そしてこの血清を1707の分析手段へと1708と1709の電極間に電場を印加することで生じる電気浸透流により導き、血清中のpH、ナトリウムイオン濃度、カリウムイオン濃度、グルコース濃度等を検出する。本実施例においてはこの分析手段を複数設置しており、これらの濃度を一度に分析することが可能である。実際に血清中のこれらの濃度を調べたところ、第一の実施例の場合と同様の精度で濃度を測定することができた。

【0025】・第3の実施例

図18には図2で説明した本発明のヘルスケアデバイスの変型例を示す。本装置は図2の例と同様に1801の石英基板上に、まず1802の血液採取のための針を介して血液を1803のマイクロキャビラリへ導入する。この際キャビラリ中で血液が凝固しないように1804に貯めておいた抗凝固剤(クエン酸ナトリウム、EDTA

、ヘパリン)を1805のゴム栓を押すことで適宜キャビラリ内に供給してもよい。そして1706の透過手段において血漿と血球を分離する。そしてこの血漿を1807の分析手段へと1808と1809の電極間に電場を印加することで生じる電気浸透流により導き、血漿中のpH、ナトリウムイオン濃度、カリウムイオン濃度、グルコース濃度等を検出する。本実施例においてはこの分析手段を複数設置しており、これらの濃度を一度に分析することが可能である。実際に1806で透過した血漿中のこれらの濃度を調べたところ、第一の実施例の場合と同様の精度で濃度を測定することができた。

【0026】

【発明の効果】以上に述べたとおり、本発明による血液分析装置では、血液分析に必要となる採血、透過、分離、分析などの機能をコンパクトに一体化することを実現した。家庭で手軽に取り扱える本装置により、日々血液検査を実施し、健康管理、疾病の早期発見に大きく貢献する。

【図面の簡単な説明】

- 【図1】 キャビラリ電気泳動法を説明する図
- 【図2】 本発明による装置の概略図
- 【図3】 針の製造法を説明する図(その1)
- 【図4】 針の製造法を説明する図(その2)
- 【図5】 マイクロキャビラリの製造法を説明する図
- 【図6】 電気泳透流によりマイクロキャビラリ中のイオンの移動を示す図

- 【図7】 ポンプ作用の吸引力の測定方法
- 【図8】 透過手段の構成を示す図
- 【図9】 分離手段の構成を示す図
- 【図10】 遠心分離器

- 【図11】 マイクロキャビラリ内壁へのMPCポリマーコート効果

- 【図12】 ポンプ作用に及ぼすマイクロキャビラリ長の影響を示す図

- 【図13】 マイクロキャビラリ中での緩衝液の逆流を示す図

- 【図14】 ケミカルセンサの構成を示す図

- 【図15】 グルコース密度の測定結果

- 【図16】 pH、Na⁺、K⁺各濃度の測定結果

- 【図17】 第2の実施例を示す図

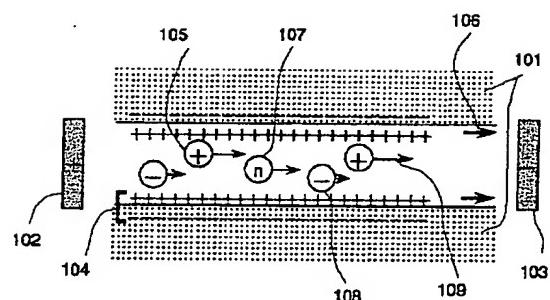
- 【図18】 第3の実施例を示す図

【符号の説明】

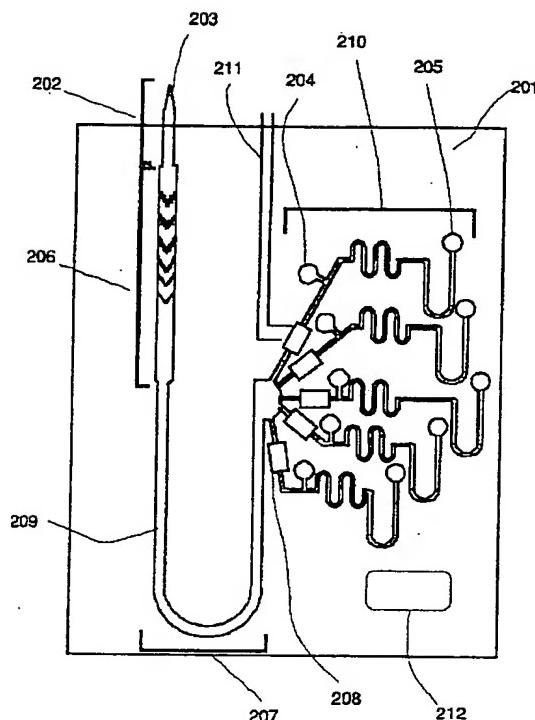
- 101 石英
- 102 電極
- 103 電極
- 104 電気二重層
- 105 カチオン
- 106 電気浸透流
- 107 中性イオン
- 108 アニオン

- | | | | |
|-----|---|------|-----------|
| 109 | 電気泳動流 | 802 | 注入口 |
| 201 | 基板 | 803 | 針 |
| 202 | 採取手段 | 804 | 濾過手段 |
| 203 | 針 | 805 | 10 μm幅溝 |
| 204 | 電極 | 806 | 8 μm幅溝 |
| 205 | 電極 | 807 | 6 μm幅溝 |
| 206 | 濾過手段 | 808 | 4 μm幅溝 |
| 207 | 分離機構 | 809 | 2 μm幅溝 |
| 208 | 分析手段 | 810 | 1 μm幅溝 |
| 209 | 流路手段 | 811 | 電極A |
| 210 | 移動手段 | 812 | 電極B |
| 211 | 出力手段 | 813 | 血漿の流れ |
| 212 | 制御手段 | 901 | マイクロキャビラリ |
| 301 | 石英棒 | 902 | 注入口 |
| 302 | バーナー | 903 | 電気浸透ポンプ |
| 303 | 石英棒 | 904 | 電極A |
| 304 | ヒーター | 905 | 電極B |
| 305 | 石英管 | 906 | 石英基板 |
| 306 | 気体 (POCl ₃ +O ₂) | 1001 | 遠心分離器 |
| 307 | 排気 | 1002 | キャビラリ |
| 308 | リングガラス | 1401 | ISFETa |
| 309 | 支持台 | 1402 | ISFETb |
| 401 | ステンレスターゲット | 1403 | 参照、白金電極a |
| 402 | 永久磁石 | 1404 | 参照、白金電極b |
| 403 | リングガラス | 1405 | 電極a (+) |
| 404 | 電源 | 1406 | 電極b (+) |
| 405 | プラズマ | 1407 | 液貯め |
| 406 | ステンレス堆積膜 | 1408 | 液貯め |
| 407 | 水冷パイプ | 1701 | 石英基板 |
| 408 | 銅板 | 1702 | 針 |
| 501 | 石英板A | 1703 | マイクロキャビラリ |
| 502 | クロム膜 | 1704 | 液貯め |
| 503 | ホトレジスト | 1705 | ゴム栓 |
| 504 | 石英板B | 1706 | 分離手段 |
| 505 | 電極 | 1707 | 分析手段 |
| 701 | マイクロキャビラリ | 1708 | 電極 |
| 702 | 電極A | 1709 | 電極 |
| 703 | 電極B | 1801 | 石英基板 |
| 704 | 入口C | 1802 | 針 |
| 705 | 空気 | 1803 | マイクロキャビラリ |
| 706 | ピストン | 1804 | 液貯め |
| 707 | 圧力計 | 1805 | ゴム栓 |
| 708 | 平衡圧力 | 1806 | 濾過手段 |
| 709 | 吐出圧力 | 1807 | 分析手段 |
| 710 | 高電圧吐出領域 | 1808 | 電極 |
| 711 | 無電界領域 | 1809 | 電極 |
| 801 | 採取手段ならびに濾過手段 | | |

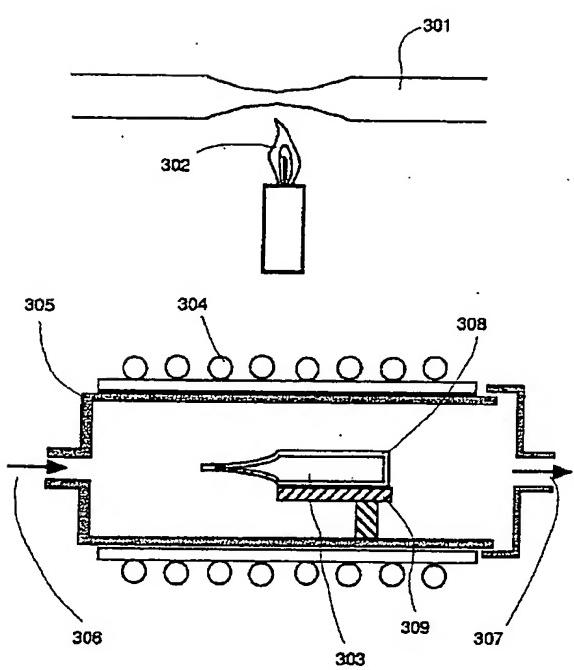
【図1】



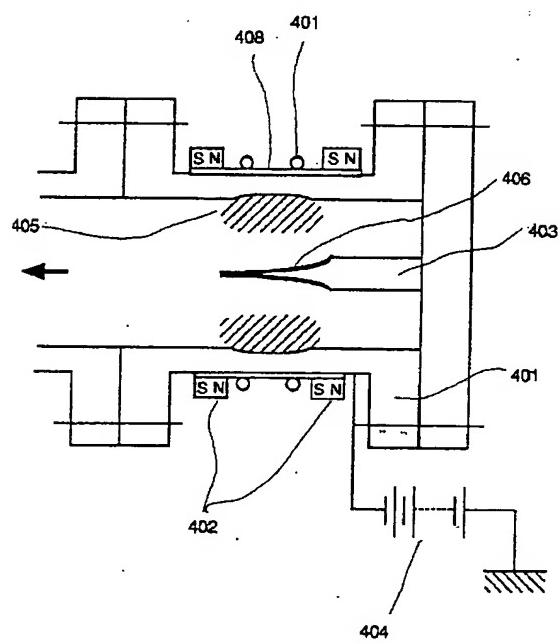
【図2】



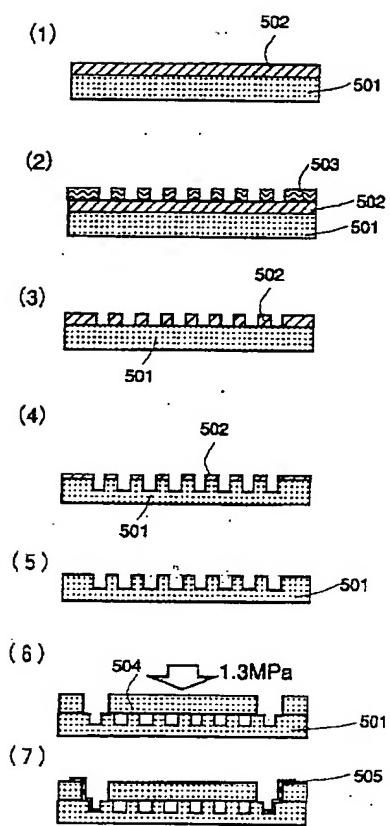
【図3】



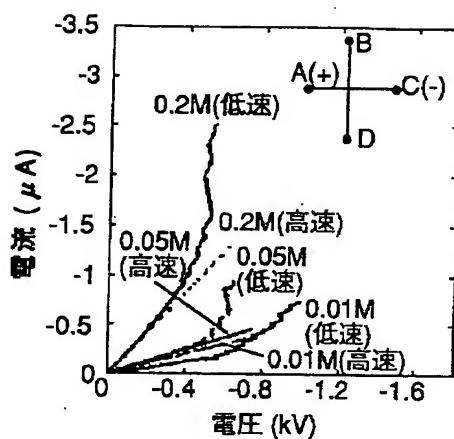
【図4】



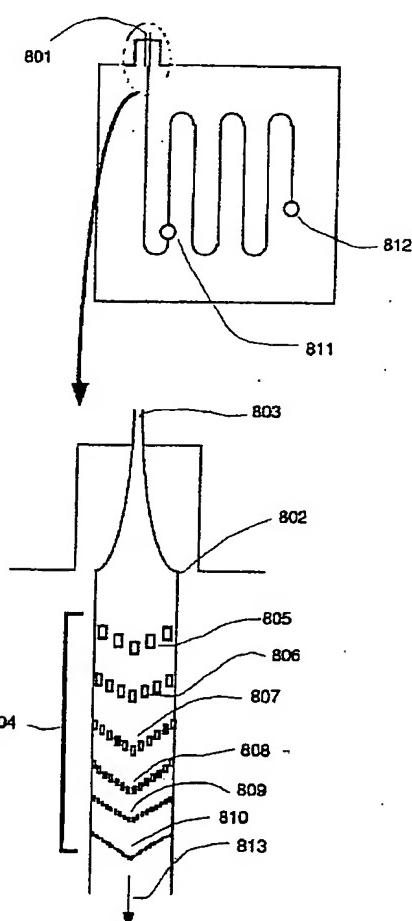
【図5】



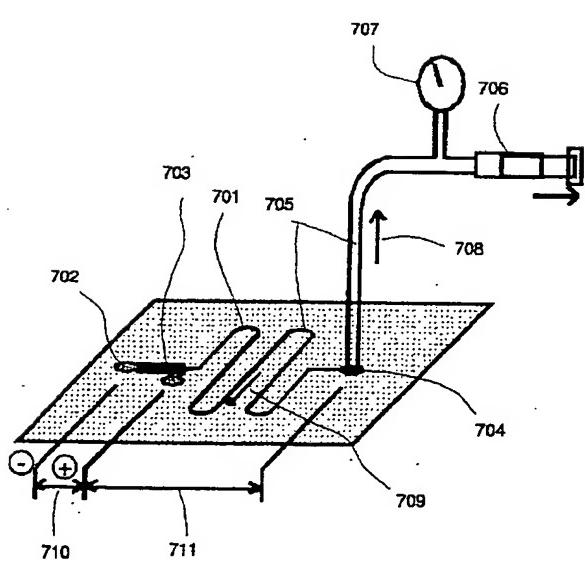
【図6】



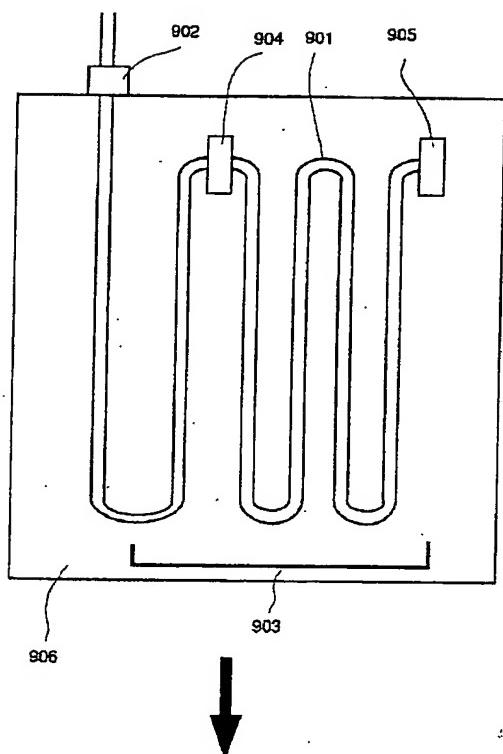
【図8】



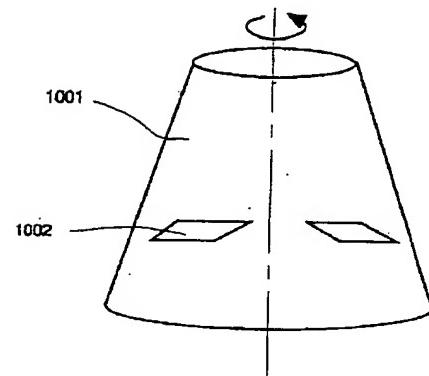
【図7】



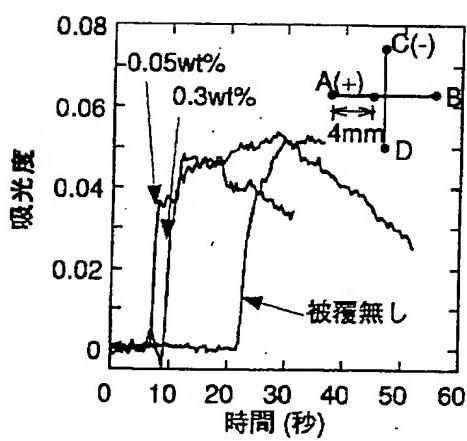
【図9】



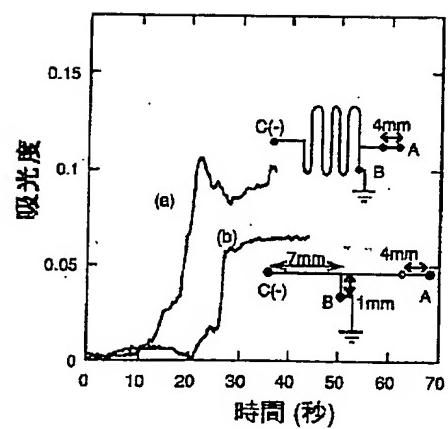
【図10】



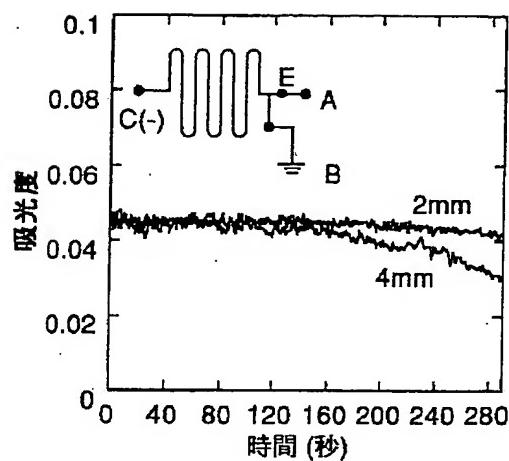
【図11】



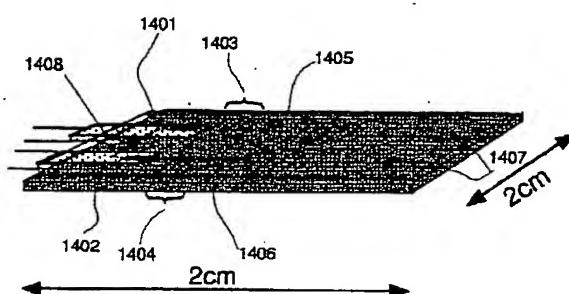
【図12】



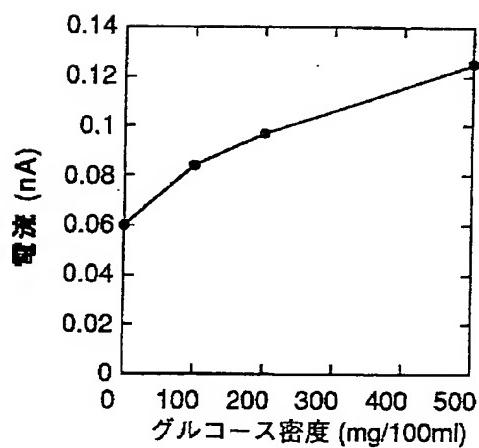
【図13】



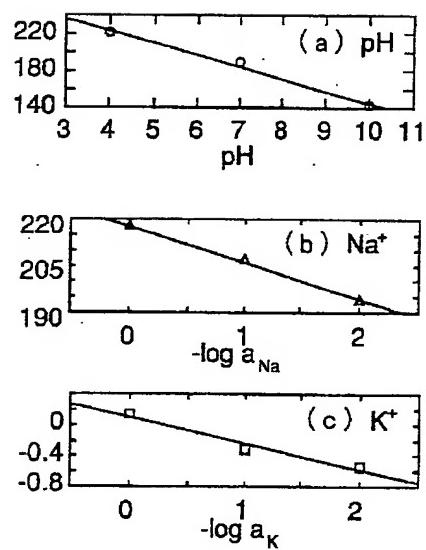
【図14】



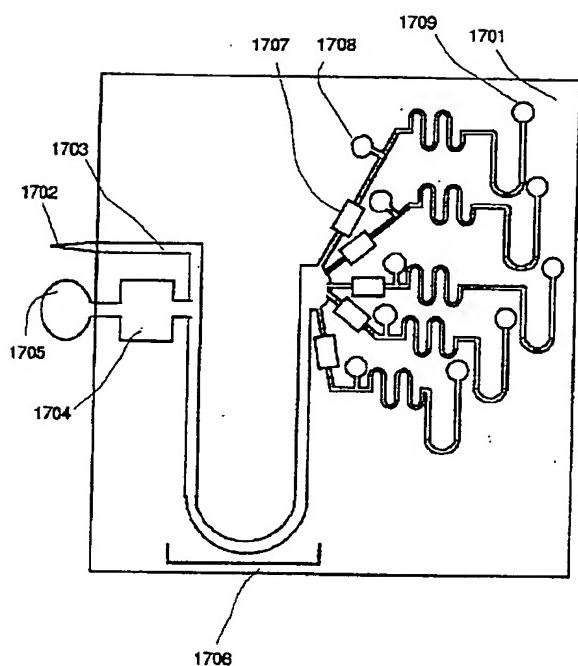
【図15】



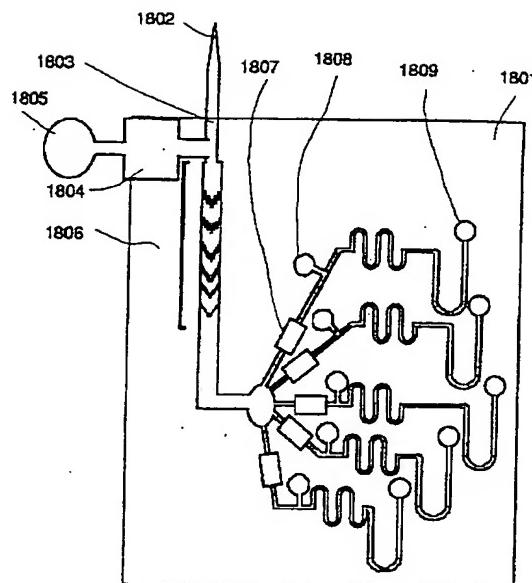
【図16】



【図17】



【図18】



フロントページの続き

(51) Int. Cl. 7

G 01 N 27/416
31/22
33/49
33/66
33/84

// G 01 N 1/10

識別記号

F I	
G 01 N	1/10
A 61 B	5/14
G 01 N 27/26	
27/30	
27/46	

マークコード(参考)

G
3 1 0
3 0 0 H
3 0 0 B
3 0 0 C
3 3 1 G
3 0 1 G
3 5 3 B
3 5 3 J
3 5 3 R
3 3 8
3 5 1 B
3 5 3 A

(72)発明者 石原 一彦

東京都小平市上水本町3-16-37

(72)発明者 一木 隆範

埼玉県坂戸市千代田1丁目25番地14号サン

ハイツ 喜芳201号

(72)発明者 小川 洋輝

神奈川県横浜市港北区新横浜2丁目18番地

1 センチュリー新横浜701号

(72)発明者 菊地 純

東京都港区白金台2丁目14番6号

Fターム(参考) 2G042 AA01 BB03 BB05 BB09 BC01
BC02 BD20 BE10 CB03 EA02
EA07
2G045 AA01 AA13 BA10 BB03 BB05
BB10 BB21 BB52 CA25 CA26
DA04 DA31 DB01 DB03 DB07
DB09 DB10 FA05 FB05 HA04
HA06 HA09 HA14 JA01 JA07
JA08
4C038 KK00 KK01 KK04 KK05 KK07
KK08 KK10 KL01 KM00 KX01
TA06 TA10 UJ01